



健常ヒト末梢血中における新たなMuse細胞サブタイプ

著者	佐藤 哲哉
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	11301甲第17951号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00123861

学 位 論 文 要 約

博士論文題目 健常ヒト末梢血中における新たな Muse 細胞サブタイプ

..... 東北大学大学院医学系研究科 医科学 専攻

..... 外科病態学講座 救急医学分野

学籍番号 B4MD5071 氏名 佐藤 哲哉

背景：これまでの急性侵襲病態に対する間葉系幹細胞による cell-based therapy は、trophic effect に限定される効果に注目したものであったが、現在、新たなアプローチとして、多様な細胞への分化能を有し、傷害細胞を修復する幹細胞による治療が試みられている。ヒト多能性幹細胞マーカーである SSEA-3 が陽性である Muse 細胞は、骨髄や脂肪組織、皮膚、各臓器の結合組織など様々な組織に内在する多能性幹細胞である。それらは損傷組織に遊走・生着し、組織を修復するために組織に応じた細胞へ自発的に分化することが報告されている。最近、急性心筋梗塞患者や脳梗塞患者の末梢血中にも SSEA-3 陽性細胞が存在することが報告されているが、その特性は明らかになっていない。

目的：ヒト末梢血中において SSEA-3 陽性細胞を同定し、その性質について明らかにすること。

方法：健常ボランティアから得たヒト新鮮末梢血を用いて、まず、単核球成分を比重遠心法により分離し、フローサイトメトリーにて SSEA-3 陽性細胞を同定した。これらの細胞を用いて、共焦点レーザー顕微鏡による形態学的評価を行った。次に、末梢血中に存在する各種細胞を同定するための細胞表面マーカーを用いて、SSEA-3 陽性細胞との二重染色を行い、細胞の表現型を調べた。また、細胞培養における増殖能の評価を行った。さらに、定量 PCR による遺伝子発現解析により、多能性の解析を行った。最後に、スフィンゴシン-1-リン酸を用いた遊走能試験で細胞の走化性を、マウスラクナ梗塞モデルに対する脳内局所投与移植実験で、細胞の分化能を検討した。

結果/考察：16 人の健常ボランティアにおける解析で、血中における、この末梢血 SSEA-3 陽性細胞の数は、単核球当たり平均 $0.04 \pm 0.003\%$ と少数であることがわかった。また、この細胞のサイズは $10.1 \pm 0.3 \mu m$ と従来報告されてきた組織由来 Muse 細胞よりも小さかった。組織由来 Muse 細胞の大部分は CD105 が陽性であると報告されているが、一方で、本研究において同定した末梢血 SSEA-3 陽性細胞の細胞表面マーカーにおいては、CD105 の発現は約 22% と低率であり、CD45 は 100% 陽性、CD19 は約 85% 発現していた。さらに、In vitro においては、接着性や増殖力が低く、接着培養による拡大ができなかった。また、接着性に関わっていると考えられる CD105 について、末梢血 SSEA-3 陰性細胞や骨髄間葉系幹細胞由来の Muse 細胞と比べても定量 PCR における遺伝子発現が低率であった。しかしながら、定量 PCR による Nanog, Oct3 / 4 および

(書式 18) 課程博士

Sox2 などの多能性因子の遺伝子発現解析にて、これらの末梢血 SSEA-3 陽性細胞は、末梢血 SSEA-3 陰性細胞や骨髄間葉系幹細胞由来の Muse 細胞と比較して、それらの多能性因子を高率に発現していた。心筋梗塞患者において、血中のスフィンゴシン-1-リン酸濃度上昇と末梢血中の SSEA-3 陽性細胞の増加が相関することが示されており、スフィンゴシン-1-リン酸を用いた遊走能試験にて、末梢血 SSEA-3 陽性細胞の移動距離、速度、方向性について遊走能の上昇を示した。さらに、マウスラクナ梗塞モデルに本細胞を脳内局所投与したところ、投与7日目の観察で脳内に残存し、NeuNを発現している細胞を認めたことより、神経細胞への分化を示し、組織修復に関与していることが示唆された。

結語:末梢血中には、これまでに報告された他の末梢血幹細胞や前駆細胞とは異なる、既報の組織由来 Muse 細胞といくつかの性質を共有する一方で、異なる特性を有する、“末梢血 Muse 細胞”という新規の Muse 細胞サブタイプが含まれている可能性がある。